УДК 582.281.123.2.017.735:547.92

ГРИБЫ РОДА *Penicillium* КАК ПРОДУЦЕНТЫ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ (ОБЗОР)

© 2013 г. А. Г. Козловский, В. П. Желифонова, Т. В. Антипова

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино, 142290;
e-mail: Kozlovski@ibpm.pushchino.ru

Поступила в редакцию 6.02.2012 г.

Грибы рода *Penicillium*, выделенные из малоизученных местообитаний, способны синтезировать как известные ранее, так и новые физиологически активные вещества различной структуры. К ним относятся вторичные метаболиты алкалоидной природы - эргоалкалоиды, дикетопиперазины, хинолины, хиназолины, бензодиазепины и поликетиды. Обсуждается использование профилей вторичных метаболитов для целей таксономии. Изучение физиолого-биохимических характеристик продуцентов биоактивных соединений показало, что биосинтез алкалоидов начинается с первых суток культивирования и идет параллельно росту. Отмечен циклический характер накопления алкалоидов, связанный с процессами биосинтеза, экскреции из клеток, деградацией в культуральной жидкости и поглощением алкалоидов клетками. Синхронные изменения концентрации внутриклеточного триптофана и алкалоидов необходимы для регуляции оптимального для культуры количества триптофана.

DOI: 10.7868/S0555109913010091

REFOLDING OF RECOMBINANT HUMAN INTERFERON α-2a FROM *Escherichia coli* BY UREA GRADIENT SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY

© 2013 F. Gao*, L. Shi, and L.-X. Xu***

**College of Life Science, Qufu Normal University, Qufu 273165, China*
*** Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203China*
e-mail: gaofeiqf@yahoo.cn

Received December 20, 2011

Protein refolding is still a puzzle in the production of recombinant proteins expressed as inclusion bodies (IBs) in *Escherichia coli*. Gradient size exclusion chromatography (SEC) is a recently developed method for refolding of recombinant proteins in IBs. In this study, we used a decreasing urea gradient SEC for the refolding of recombinant human interferon a-2a (rhIFNa-2a) which was overexpressed as IBs in *E. coli*. In chromatographic process, the denatured rhIFNa-2a would pass along the 8.0—3.0 M urea gradient and refold gradually. Several operating conditions, such as final concentration of urea along the column, gradient length, the ratio of reduced to oxidized glutathione and flow rate were investigated, respectively. Under the optimum conditions, 1.2 x 10^8 IU/mg of specific activity and 82% mass recovery were obtained from the loaded 10 ml of 1.75 mg/ml denatured protein, and rhIFNa-2a was also purified during this process with the purity of higher than 92%. Compared with dilution method, urea gradient SEC was more efficient for the rhIFNα-2a refolding in terms of specific activity and mass recovery.

DOI: 10.7868/S0555109913010054

УДК 577.150

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И АНТИПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ РЕКОМБИНАНТНОЙ L-АСПАРАГИНАЗЫ *Yersinia pseudotuberculosis*

© 2013 г. В. С. Покровский*, М. В. Покровская*, С. С. Александрова*, Р. М. Андрианов, Д. Д. Жданов*, Н. М. Омельянюк*, Е. М. Трещалина***, Н. Н. Соколов***

** Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, Москва, 119121*
e-mail: vadimpokrovsky@yandex.ru
***Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071*
****Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва, 115478*

Поступила в редакцию 3.10.2011 г.

Изучены физико-химические, каталитические свойства, а также антипролиферативная активность рекомбинантной L-аспарагиназы *Yersinia pseudotuberculosis* (YpA). Получены следующие результаты: K_M для L-аспарагина 17 ± 0.9 мкМ, оптимальная температура 60°С, pH 8.0, pI 5.4 ± 0.3, L-глутаминазная активность не более 5-6% от L-аспарагиназной, антипролиферативная активность

на лимфаденозе Фишера L5178y составляет T/C = 136% *(p* <0.001) при 15% излечения. Описанная характеристика позволяет считать YpA противоопухолевым ферментом с близкими L-аспарагиназе *E. coli* (EcA) биологическими свойствами.

DOI: 10.7868/S0555109913010169

АМИЛАЗА ИЗ ГРИБА ЕЖОВИКА ГРЕБЕНЧАТОГО *Hericium erinaceum*

©2013 г. Ф. Ду*, Н. Х. Ван*, Т. Б. Наг**

** Государственная лаборатория агробиотехнологии кафедры микробиологии,*

Китайский сельскохозяйственный университет, Пекин 100193, Китай

e-mail: hxwang@cau.edu.cn

***Медицинский факультет, Китайский университет Гонконга, Шатин, Новые Территории, Гонконг, Китай*

e-mail: b021770@mailserv.cuhk.edu.hk

Поступила в редакцию 29.03.2012 г.

Из плодовых тел гриба ежовика гребенчатого *Hericium erinaceum* выделена и очищена амилаза, сходная по молекулярной массе и N-концевой последовательности аминокислот с ферментом из *Bacteroides thetaitaomicron*. Схема очистки включала экстракцию фермента из плодовых тел дистиллированной водой, ионообменную хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе, SP-сефарозе и FPLC на Superdex 75. Амилаза *H. erinaceum* сорбировалась на ДЭАЭ-целлюлозе в 10 мМ трис-HCl буфере, pH 7.4, элюировалась 0.2 M NaCl в том же буфере, на SP-сефарозе в 10 мМ трис-HCI буфере, pH 4.5, элюировалась 0.3 M NaCl в том же буфере. Собранные активные фракции подвергали очистке на FPLC на колонке с Superdex 75. На основании ДДС-ПААГ-электрофореза собранные фракции содержали гомогенный белок с молекулярной массой 55 кДа. Амилаза из *H. erinaceum* имела оптимум pH 4.6, температурный оптимум 40°C. Активность фермента увеличивалась в присутствии ионов Mn^{2+} и Fe^{3+}, ингибировалась ионами Hg^{2+}.

DOI: 10.7868/S0555109913010042

УДК 577.152.34.02

ГЕТЕРОЛОГИЧНАЯ ЭКСПРЕССИЯ, ОЧИСТКА И СВОЙСТВА БЕЛКА-ИНГИБИТОРА ХИМОТРИПСИНА ИЗ КАРТОФЕЛЯ

© 2013 г. И. А. Парфёнов, Т. А. Ревина, Н. Г. Герасимова, Г. В. Кладницкая, Т. А. Валуева

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071

e-mail: valueva@inbi.ras.ru

Поступила в редакцию 16.05.2012 г.

Ген *PKPIJ-B*, кодирующий в картофеле (*Solanum tuberosum* L., сорт Юбилей Жукова) белок-ингибитор химотрипсина, принадлежащий к подсемейству картофельных ингибиторов Кунитца (PKPI, potato Kunitz-type proteinase inhibitors) был клонирован в вектор pET23a и затем экспрессирован в клетки *Escherichia coli*. Рекомбинантный белок PKPIJ-B, полученный в виде телец включения, денатурировали, отделяли от примесей методом высоко эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на Mono Q в денатурирующих условиях и ренатурировали. Ренатурированный белок был дополнительно очищен с помощью ВЭЖХ на ДЭАЭ-Toyopearl. Белок PKPIJ-B эффективно подавлял активность химотрипсина, слабее действовал на трипсин и угнетал рост и развитие фитопатогенных микроорганизмов, поражающих растения картофеля.

DOI: 10.7868/S0555109913010145

УДК 579.852.11

ОСОБЕННОСТЬ КРИСТАЛЛООБРАЗОВАНИЯ У ПИГМЕНТООБРАЗУЮЩИХ КУЛЬТУР *Bacillus thuringiensis*

© 2013 г. Л. А. Чил-Акопян, А. А. Амбарцумян, А. Х. Чахалян

НПЦ "Армбиотехнология " НАН РА, Армения, Ереван, 0056

e-mail: armbiotech@yahoo.com, anachakh@gmail.com

Поступила в редакцию 13.10.2011 г.

У ряда пигментообразующих культур *Bacillus thuringiensis* (BT) обнаружена прямая корреляция между розовой пигментацией колоний и образованием инсектицидных кристаллов — токсинов. Указанная закономерность впервые установлена нами у штаммов BT серотипов H3, 10, H16. Беспигментные клоны

этих серотипов кристаллов не образуют. У штаммов серотипа H14, образующих овальные включения, эта закономерность не отмечена.
Выявленная корреляция позволяет дифференцировать кристаллообразующие колонии в культурах указанных сероваров по наличию пигментации. Предлагаемый способ может служить эффективным экспресс-методом выявления вирулентных клонов, что особенно важно при использовании этих штаммов для производства инсектицидных препаратов.

DOI: 10.7868/S0555109913010030

УДК 582.28

ГИДРАТАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА МИЦЕЛИЯ ГРИБОВ И СОДЕРЖАНИЕ β-ГЛЮКАНА

© 2013 г. М. В. Киянко*, Р. С. Канел, В. Людеманн**, Г. Позе**, Дж. Р. Вагнер****

** Национальный университет Кильмес, Буэнос-Айрес, 1876, Аргентина*

***Национальный научно-исследовательский совет, Буэнос-Айрес, 1033, Аргентина*

e-mail: vkyanko@gmail.com

Поступила в редакцию 14.02.2012 г.

Выделены и идентифицированы мицелиальные грибы из различных источников для исследования свойств пищевых волокон мицелия и содержания β-глюкана. Изучена способность мицелия к поглощению и удерживанию воды. Содержание пищевых волокон в грибах варьировало в пределах 16—53%, самые высокие значения были получены для родов *Paecilomyces* и *Penicillium*, что соответствовало более высокому содержанию в них β-глюкана (24 и 17% соответственно). Эти показатели значительно выше ранее опубликованных для базидиомицетов и дрожжей. Мицелий грибов с высокой водоудерживающей способностью обладал также и большей способностью к поглощению воды. Мицелий *Paecilomyces variotii* и *Penicillium nalgiovense* обладали лучшими гидратационными свойствами, высушенный мицелий в значительной степени терял способность к удерживанию воды (на 75%). Полученные результаты вносят вклад в исследование новых нетрадиционных ингредиентов с высоким содержанием белка и β-глюкана. Использование высушенного мицелия в качестве таких добавок может изменять водоудерживающие свойства пищевых систем.

DOI: 10.7868/S055510991301008X

УДК 602.4.582.28:577.114

ПОЛУЧЕНИЕ БИОДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА НА ОСНОВЕ ЛИПИДОВ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

© 2013 г. В. В. Лунин*, Я. Э. Сергеева, Л. А. Галанина**, И. С. Мысякина**, А. А. Ивашечкин**, В. И. Богдан***, Е. П. Феофилова****

** Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва,119991*

*** Институт микробиологии им. С. И. Виноградского РАН, Москва, 117312*

**** Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, 119991*

e-mail: feofllov@inmi.host.ru

Поступила в редакцию 14.02.2012 г.

Рассмотрены основные этапы биотехнологии получения биодизельного топлива на основе липидов мицелиальных грибов порядка Mucorales. Проведен скрининг грибов семейства Cunninghamellaceae, получены данные о липогенной активности изученных штаммов, и найден продуцент, образующий до 50% липидов, представленных в основном триацилглицеринами. Изучено влияние замены источника углерода и азота на более дешевые компоненты (в том числе отходы ряда производств), их влияние на количество и основные характеристики конечного продукта. Использована экологически чистая методика извлечения липидов из мицелия грибов с помощью сверхкритических технологий. Обнаружена зависимость между содержанием липидов в посевном споровом материале и максимальным содержанием липидов в биомассе, что предлагается использовать для оптимизации биотехнологии и увеличения выхода конечного продукта.

DOI: 10.7868/S0555109913010121

УДК 577.113

ВЛИЯНИЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТЕНИЙ НА БИОСИНТЕЗ РЕЗВЕРАТРОЛА В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ВИНОГРАДА АМУРСКОГО *Vitis amurensis* Rupr.

© 2013 г. К. В. Киселёв*, О. А. Шумакова, А. Ю. Маняхин*****

** Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток, 690022*

e-mail: kiselev@biosoil.ru

***Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, 690090*

****Горнотаежная станция ДВО РАН, Горнотаежное, 692533*

Поступила в редакцию 3.10.2011 г.

Исследован биосинтез резвератрола при добавлении предшественника биосинтеза — фенилаланина (Фен). Показано, что добавление Фен достоверно увеличивало экспрессию генов фенилаланин-аммиак-лиаз *(ФАЛ),* стильбенсинтаз (*СТС)* и продукцию резвератрола в 8.5 раза. Полученные данные по продукции резвератрола при добавлении Фен и кумаровой кислоты (КК) сравнены с известными аналогами.

DOI: 10.7868/S0555109913010078

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ ДИНАТРИЕВОЙ СОЛИ ЦИКЛОПЕНТЕНОВОГО β,β'-ТРИКЕТОНА НА АКТИВНОСТЬ ГИДРОЛАЗ И СОСТОЯНИЕ ЧАСТИЦ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ В ЛИСТЬЯХ ТАБАКА

© 2013 г. Л. А. Лапшина, А. В. Реунов, В. П. Нагорская, О. П. Шестак, В. Л. Новиков

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток, 690022

e-mail: antreunov@mail.ru

Поступила в редакцию 18.11.2011 г.

Определена активность гидролаз (протеазы, РНКазы) в незараженных и зараженных вирусом табачной мозаики листьях табака сорта Самсун, не обработанных и обработанных динатриевой солью 2-ацетил-4-гидроксикарбонил-метилтио-5-хлороциклопент-4-ен-1,3-диона (ДС). Показано, что обработка листьев этим соединением существенно повышала в них активность гидролаз по сравнению с необработанными листьями. В инфицированных листьях, обработанных за 1 сут до заражения ДС, наряду с повышенным уровнем гидролаз, выявлено большее количество подвергнутых деструктивным изменениям вирусных частиц, чем в зараженных необработанных листьях. Предполагается, что обусловленная ДС активация гидролаз способствует деструкции вирусных частиц и, таким образом, является одним из индуцированных этим соединением защитных механизмов клеток, препятствующих внутриклеточному накоплению вируса.

DOI: 10.7868/S055510991301011X

УДК 616.9; 608.3:576.08; 57.085.23; 57.047

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЦИТОПАТОГЕННОСТИ ВИРУСОВ В МАКРОФАГАХ

© 2013 г. Н. Г. Плехова, Л М. Сомова*, Н. В. Крылова*, Г. Н. Леонова*, И. Н. Ляпун*, И. С. Смирнов****

** Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, Владивосток, 690087*

***Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, 690950*

e-mail: pl_nat@hotmail.com

Поступила в редакцию 27.09.2011 г.

Приведены результаты исследования метаболизма макрофагов при их заражении вирусами, различающимися по вирулентности. Для оптимизации оценки цитопатогенного действия вирусов на макрофаги предложен индекс реактивности клеток, который позволил выявить степень вирусного воздействия в условных единицах. Применение высокочувствительных методов определения функциональной активности макрофагов и выявление корреляционной связи между ее изменениями и морфологическими особенностями клеток можно отнести к объективным способам индикации не только репродукции вирусов, но и дифференцировки типов и степени их цитопатогенного действия.

DOI: 10.7868/S0555109913010157

УДК 543.544:547.913

АНТИРАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ОРЕГАНО, ТИМЬЯНА И ЧАБЕРА

© 2013 г. Е. С. Алинкина, Т. А. Мишарина, Л. Д. Фаткуллина

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва 119334

e-mail: katrinalinka@gmail.com

Поступила в редакцию 26.03.2012 г.

В модельных реакциях со стабильным свободным 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил-радикалом изучены антирадикальные свойства близких по качественному составу, но различающихся по количественному содержанию основных компонентов эфирных масел тимьяна (*Thymus vulgare),* орегано *(Origanum vulgare)* и чабера (*Satureja hortensis)* и сопоставлены со свойствами синтетического антиоксиданта ионола. Скорости реакций компонентов эфирных масел с радикалом были практически одинаковы для эфирных масел и вдвое больше, чем скорость реакции ионола. Величины антирадикальной эффективности также были близки между собой для всех эфирных масел, но на порядок меньше, чем для ионола.

DOI: 10.7868/S0555109913010029

УДК 638.15

МЕТОД МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР ДЛЯ БЫСТРОГО ОБНАРУЖЕНИЯ *Paenibacillus larvae* В ГНИЛОСТНОЙ МАССЕ СОТ И КОЛОНИЯХ БАКТЕРИЙ

© 2013 г. Н. В. Русенова*, П. Парванов*, С. Станилова**

**Факультет ветеринарной медицины, кафедра ветеринарной микробиологии инфекционных и паразитарных заболеваний, Тракийский университет, Стара Загора, 6000, Болгария*

***Отдел молекулярной биологии медицинского факультета,*

Тракийский университет, Стара Загора, 6000, Болгария

e-mail: n_v_n_v@abv.bg

Поступила в редакцию 26.01.2012 г.

Разработан быстрый и чувствительный метод мультиплексной полимеразной цепной реакции для стандартной диагностики американского гнильца. Предложен новый подход для обнаружения *Paenibacillus larvae* в гнилостной массе. Исследовано 45 образцов такой массы из пчелиных сот, в которых предполагалось присутствие американского гнильца. В экспериментальную выборку также были включены следующие родственные культуры: эталонный штамм — *Paenibacillus larvae* (NBIMCC 8478), культуры, выделенные из клинических образцов, 4 штамма близких видов бактерий. ДНК из бактериальных колоний выделяли стандартным методом, включающим нагревание и центрифугирование с использованием коммерческого набора (prepGem). Выделение ДНК из гнилостной массы сот проводилось в соответствии со стандартной и модифицированной процедурами. Для проведения мультиплексной ПЦР были использованы три пары праймеров, специфичных к 16S рРНК, и одна пара праймеров, специфичная для гена металлопротеазы (35 кДа) *P. larvae* в различных комбинациях. Чувствительность разработанного метода мультиплексной ПЦР для гнилостной массы составила 100%, что значительно превышало показатель чувствительности стандартного протокола (45.2%). Разработанный метод мультиплексной ПЦР может быть успешно использован для быстрого обнаружения *Paenibacillus larvae* как в гнилосной массе, так и в колониях выделенных бактерий.

DOI: 10.7868/S0555109913010182